

BEST AVAILABLE COPY

DIETARY THERAPY FOOD AND MEDICINE FOR INHIBITING BLOOD COAGULATION

Patent Number: JP10045614
Publication date: 1998-02-17
Inventor(s): VERMEER CEES DR; GNAUCK GUENTER DR; STUTE ROLF DR
Applicant(s): CPC INTERNATL INC
Requested Patent: JP10045614
Application Number: JP19970104937 19970422
Priority Number(s):
IPC Classification: A61K35/78; A23D9/007; A23L1/30
EC Classification:
Equivalents: CN1172591, CZ9701196, HU9700794, NO971854, SK49797, ZA9703408

Abstract

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject food capable of preventing diseases such as thrombosis by using a germ oil of grain, preferably a germ oil of corn (maize) to cause reduction in plasma prothrombin and corresponding increase in hepatogenic prothrombin precursor molecule.
SOLUTION: This food comprises a germ oil of grain, preferably a germ oil of corn (maize) in a proper carrier. The germ oil is preferably a germ oil rich in ubiquinone 9/10 by CO₂ <-> extraction according to fraction. The ubiquinone shows a group of a fat-soluble 2, 3-dimethoxy-5methyl-1,4-dibenzoquinone containing an isoprenoid side chain having 1-10 dihydroisoprene units. When a germ oil enriched by ubiquinone is used, the effective medicinal amount of the corn oil can be substantially reduced to 10-10ml.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-45614

(43) 公開日 平成10年(1998) 2月17日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 35/78	A C B		A 6 1 K 35/78	A C B U
A 2 3 D 9/007			A 2 3 L 1/30	B
A 2 3 L 1/30			A 2 3 D 9/00	5 1 6

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 6 頁)

(21) 出願番号 特願平9-104937
(22) 出願日 平成9年(1997) 4月22日
(31) 優先権主張番号 9 6 1 0 6 3 4 4 : 3
(32) 優先日 1996年4月23日
(33) 優先権主張国 ドイツ (D E)

(71) 出願人 595005123
シー・ピー・シー・インターナショナル・
インコーポレイテッド
アメリカ合衆国、ニュー・ジャージー州、
07632 、エングルウッド・クリフス、イ
ンターナショナル・プラザ (番地なし)
(72) 発明者 セース・フエルメール
オランダ国、マーストリヒト、ユニバーシ
ユタイツジングル50、シー・オー・ユニバ
ーシティ・オブ・リムブルク/カリム
(74) 代理人 弁理士 江崎 光史 (外2名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 血液凝固を阻害する食事療法食品及び医薬

(57) 【要約】

【課題】 血液凝固を阻害する食事療法食品及び医薬

【解決手段】 血液凝固阻害作用を有する食事療法食品
及び医薬の調製に穀物胚芽油、好ましくはコーン油を使用
する方法。血液凝固阻害作用を有する食事療法食品及び
経口投与用医薬。穀物胚芽油、好ましくはコーン油を
経口投与することを特徴とする、ヒト及び温血動物に於
て血液凝固を阻害する方法。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 血液凝固阻害作用を有する食事療法食品及び医薬を調製するために、穀粒胚芽油、好ましくはコーン（メイズ）胚芽油を使用する方法。

【請求項2】 適するキャリアー中に穀粒胚芽油、好ましくはコーン（メイズ）胚芽油を含有する血液凝固阻害作用を有する、食事療法食品及び経口投与用医薬。

【請求項3】 ユビキノン9／10が富化されている胚芽油を使用する、請求項2記載の食事療法食品及び医薬。

【請求項4】 分画に応じてCO₂-抽出することによってユビキノン9／10が富化されている胚芽油を使用する、請求項3記載の食事療法食品及び医薬。

【請求項5】 ユビキノン9／10の自然の又は濃厚な濃度を有する、穀粒胚芽油、好ましくはコーン（メイズ）胚芽油を経口投与することを特徴とする、ヒト及び温血動物の血液凝固を阻害する方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は血液凝固阻害作用を有する食事療法食品及び経口投与用医薬に関し、これはヒト及び温血動物の血液凝固阻害に有用である。更に本発明はこの様な食事療法食品及び医薬を調製する方法及び血液凝固阻害方法に関する。

【0002】

【従来の技術】血液凝固速度の上昇は、心臓発作及び心臓血管系心臓疾患（CHD）の様な生命に危険のある合併症を導きうる血栓症の発生に危険な因子として考えられる。したがって血液凝固阻害活性を有する食品はCHDの防止に有益であるはずである。

【0003】血液凝固の過程は、ビタミンK-依存性酵素を含む多くの因子が関与する複雑なメカニズムである。ビタミンKは、一般にフェニルキノンとして知られている化合物のクラスに属する。種々の食物に見出される他のフェニルキノンとしては、ユビキノン、特にユビキノン-9及びユビキノン-10が挙げられる。ユビキノン類とは、1～10個のジヒドロイソプレネ-単位を有するイソプレノイド側鎖を含有する脂溶性2、3-ジメトキシ-5-メチル-1、4-ベンゾキノンのグループを示す。イソプレネ-残基の数は通称ユビキノンに結合する数で表わされる。ユビキノン類はビタミンとしてはみなされず、補酵素として作用する。

【0004】近年、ユビキノン（補酵素Q、UQ）は、ミトコンドリアの及び細菌の呼吸で電子及びプロトンキャリアーとしてこれが関与すると共に、その還元型（ユビノール）で酸化防止剤として作用すると広く認められている。これは酸化防止剤として、脂質の不飽和脂肪酸を過酸化から防ぎ、老化による退行性疾患、たとえば脳機能不全、白内障、CHD及び癌によって引き起こされる損傷を最少のものにするのを助けることができる。こ

のことは、種々の臨床実験及び試験管内試験で明らかに示されている、UQ10に関して特にいえる。この際、特別な医薬品が入手できる。Bracco等による欧州特許第424679号明細書には、脂肪あるいは脂肪を含有する食品、化粧品又は医薬品を補酵素Q、特に補酵素Q₁₀の添加によって酸化から守ることが開示されている。

【0005】最近、フェニルキノンの合成誘導体はビタミンK-依存性酵素γ-グルタミルカルボキシラーゼ及び僅かにビタミンK-エポキサイド還元酵素を阻害することが見出された。本発明は、ユビキノン類が試験管内でビタミン-K-依存性酵素にも作用するという知見に基づいている。ユビキノン類がビタミン-K-依存性カルボキシラーゼも、そのK-エポキサイド還元酵素も、ラット及び牛肝臓系中で阻害することが分った。すなわち50%阻害率がマイクロモルの範囲の濃度で得られる。したがってユビキノン類（たとえば脂質過酸化、心臓機能、血圧及び動脈硬化へのその有益な作用の他に）は、ビタミンKに対する有用な拮抗剤であり、血液凝固で重要な役割を果たすビタミンK-依存性反応を生体内で妨げると結論づけられる。

【0006】しかしながら、生体内試験から経口投与する場合ユビキノン類がこの様な作用を有しないことが明らかである。静脈内投与（約6mg/kg体重）の場合、ユビキノン類は血液凝固パラメーターを阻害する作用を有する。しかし驚くべきことに、本発明者は、ユビキノン類を含有する穀粒胚芽油、特にコーン（メイズ）胚芽油が、コーン油として45%エネルギーを含有する治療食品の形で実験動物（ラット）に与えた場合に、顕著な抗凝固作用を有することを見出した。動物のデータからヒト（成人：標準人間約60kg）のデータを推定した場合、有効薬用量は、約40mgユビキノン9又は100gコーン油に相当する。ユビキノンで富化された油の場合、コーン油の有効薬用量は、実質上約10～10mlに減少させることができる。

【0007】胚芽油の抗凝固作用は、ユビキノン類の含有量又はコーン油中の他の成分——これは相乗的に作用する——によるかどうかは確実ではない。実際には穀粒胚芽油、特にコーン油は、経口投与で血液凝固を著しく阻害する作用を有し、一方では大豆-、ヤシ-又はひまわり油の様な他の油はこの作用を示さないか又はたとえあったとしてもほんの僅かである。

【0008】この作用は胚芽油の溶解作用又はこの油中の他の成分の相乗作用による。

【0009】

【発明を解決しようとする課題】したがって本発明は、血液凝固阻害作用を有する食事療法食品及び医薬の調製に穀粒胚芽油、好ましくはコーン油を使用する方法、血液凝固阻害作用を有する食事療法食品及び経口用医薬並びに穀粒胚芽油、好ましくはコーン油を経口投与することによって、ヒト及び温血動物の血液凝固を阻害する方法

に関する。

【0010】

【課題を解決するための手段】本発明は、血液凝固阻害作用を有する食事療法食品及び医薬の調製に穀粒胚芽油、好ましくはコーン（メイズ）胚芽油を使用する方法に関する。コレステロール代謝及び血圧調節での不飽和脂肪酸の有益な作用に加えて、本発明によれば、コーン油が驚くべきことに、経口投与に際して血栓症及びこれに関連する疾病から防ぐための著しく有益な作用を有する。

【0011】生体内実験は、コーン胚芽油の摂取が、

a) 血漿プロトロンビンの減少、及び
b) 肝性プロトロンビン前駆体分子の対応する増加を導くことを示す。別のデータは動脈性血栓症傾向に関する“生体内実験モデル”で明らかである。このモデルは一般に“大動脈ループモデル”として知られている。

【0012】大動脈ループモデルは、ラットに於ける動脈閉塞血栓症での栄養素の作用を測定する実験機構である（Hornstra等、1975 Atherosclerosis 22, 499-516）。ラットに特定の処置を行い、一定の期間の後、腹部大動脈を精液動脈の下3mmの所で横に切断し、ループ形のポリエチレンカニューレを挿入する。ループが腹部からはみ出し、外周囲に突き出す様に傷をつなげる。

【0013】大動脈ループが血管壁と永久的に接触する部位で、内皮の損傷及び流れの妨害が、外科手術後約5日で閉塞状態に達する血栓の生成及び生長を生じる。全体が閉塞したこの瞬間は、半透明のループ中の血液の色が変化することによって知らされる。ループの挿入と完全な閉塞の間の時間は、閉塞時間（OT）と呼ばれ、動物に於ける動脈性血栓症傾向の測定法として使用される。OTが短かければ短いほど、動脈性血栓症傾向は高い。飽和及び不飽和脂肪酸の血栓症傾向への作用を明らかにするために、このモデルは広い使用されている。一般に硬化ヤシ油はこの実験で陽性のコントロールとして採用される。

【0014】特に通常の体内摂取で本発明による穀粒胚芽油を使用することは、血栓塞栓及び心臓血管疾患を防ぐのを助ける。現在、クマリンタイプの抗凝固剤がこの目的にしばしば使用されている：血栓症及び心筋梗塞を防ぐための通常薬用量による治療及び末梢動脈疾患を防ぐ

* ぐための低薬用量による治療。コーン油は天然の抗凝固剤であり、その作用は低薬用量のクマリン治療に匹敵する。主な相違は、ビタミンKの再循環でのコーン油の作用がクマリンのその作用とは異なり可逆的であることにある。したがってクマリン抗凝固剤を投与された患者は、しばしば管理されねばならず（出血の危険）、コーン胚芽油を含有する製品は自由に使用することができる。

【0015】本発明による食事療法食品及び医薬は、この穀物胚芽油、好ましくはコーン（メイズ）胚芽油及び適当なベース食品又は適するキャリアーを夫々含有する。

【0016】

【実施例】次の例はコーン油、同様にコーン油中に存在するフェニルキノンの抗凝固活性を説明するものであり、これによって本発明は限定されない。

【例1】

食事療法用油の血漿プロトロンビン濃度への作用（ラット飼育試験）

20 ウィスターラットを、表1に示した油の1つを45エネルギー%で含有する治療食の任意の量で12週間飼育する。ラットの各グループは20匹から成る。血液サンプルを、ラットの尾静脈の静脈穿刺によって試験の最後に採取する。血液凝固マーカーとしてプロトロンビン濃度を、市販のトロンボプラスチン製剤（登録商標：Thromborel S）及び凝固因子II-欠乏血漿（両方とも Behringwerke社、マープルグ、ドイツからのもの）を用いて凝固メーター（KC-4、Amelung、ドイツ）によって測定する。プロトロンビン濃度を、貯留された正常ラット血漿から得られた基準曲線を用いて算出する。プロトロンビンは血液凝固の過程で重要な因子である。抗血栓症性質は直ちに血漿プロトロンビンの減少と関係する。

【0017】その血液凝固時間の著しい延長を生じるラットによるコーン油の消費は、“ビタミンK-依存性”凝固因子プロトロンビンの減少によって引き起こされる。この様な延長は、他の油、たとえばヤシ、大豆及びひまわり油には見いだされない。優れた抗血栓症作用は表1中に明らかに示される。表1に示された各ナンバーは20個のプロトロンビン測定値±SDの平均を示す。

表1：食事療法用油の血漿プロトロンビン濃度への作用

油のタイプ	プロトロンビン濃度 (コントロールグループに対する%)
大豆油	84 ± 9
ヤシ油	83 ± 9
ひまわり油	87 ± 10
コーン胚芽油	51 ± 8

【例2】

試験管内でユビキノノ/ブラストキノンのビタミンK依

存性酵素への作用

50 フィロキノン（ビタミンK₁）、ユビキノノ及びブラスト

キノンの様なフェニルキノン類は、グルタマートを γ -カルボキシル-グルタマート(G1a)に変換する間、補酵素として作用する。後者のグルタマートは血液凝固因子の生成で必須の段階である。ビタミンKの活性形はキノール(KH_2)であり、この酸化はG1a生成に必要なエネルギーを提供する。この反応で KH_2 はビタミンKエポキサイド(KO)へ変換される。このエポキサイドはKO-還元酵素と呼ばれる酵素の作用によって2つの段階に再循環される。

【0018】試験管内系で、 γ -グルタミルカルボキシラーゼがKO-還元酵素のどちらかを試験に使用する。塩で洗滌されたミクロソームを正常牛の肝臓から及び正常の及びビタミンK-欠乏のルイス系統ラットから調製する。阻害曲線を、コファクタービタミンKをそのキノ*

表2:

コファクター 阻害剤	ウシ系中のI-50 (μ m)			ラット系中のI-50 (μ M)		
	KH_2	K	KO	KH_2	K	KO
UQ-10	110 \pm 17	76 \pm 5	91 \pm 15	36 \pm 7	n. d.	n.d.
UQ-9	105 \pm 14	86 \pm 12	72 \pm 8	25 \pm 6	n. d.	n.d.
PQ-9	85 \pm 11	59 \pm 4	41 \pm 7	39 \pm 10	n. d.	n.d.

すべてのデータは、S. E. M. を用いる三重実験の平均として表わされる。“n. d.”は酵素の不安定性のために測定されなかったことを示す。

【0020】試験されたすべての天然のフェニル-ベンゾキノンは、 γ -グルタミルカルボキシラーゼ及びKO-還元酵素の双方に対して阻害活性を示す。2つの酵素は、同等の程度で阻害される。これは抗凝固活性に関してユビキノノ/プラストキノンの有効性を明らかに示す。

【例3】

例3はコーン油の高い抗血栓症活性を証明する。

大動脈ループモデル: 雄性ウィスターラットを生後5週目で実験に加え、硬化ヤシ油か、ひまわり種子油か又はコーン油のどれかの45%エネルギーを含有する治療食の任意の量で飼育する。ラット42匹から成る3つのグループを比較する。大動脈ループを移植し、治療食を閉塞が起るまで続ける。ループが固形の血栓によって閉塞されるのに必要な時間(閉塞時間)を、血栓症傾向に対する尺度として採用する。閉塞時間が長ければ長いほど、血栓症傾向は低い。閉塞時間の正確な記録には動物*

表3:

大動脈ループ実験A及びBで使用する異なるコーン油のユビキノノ及びトコフェロール含有量(ppm)

	コーン油実験A	コーン油実験B
ユビキノノQ9	264	306
ユビキノノQ10	7	8
α -トコフェロール	115	159
α -トコトリエノール	5	7

* ール形か、そのキノン形か又はそのエポキサイド形で使用してフェニルキノン(UQ-9, UQ-10及びPQ-9)の広い濃度範囲で作成する。この様な阻害曲線の例は図1中に示される。この曲線から50%阻害(I-50)に必要な阻害濃度が牛及びラットからの種々のカルボキシル化酵素系に関して算出される(図1中の点線)。インキュベーションを標準状態で行い、阻害剤をトリトンX-114中に溶解後添加する。図中のすべてのポイントは、二重実験の平均で表わされる。I-50値は、点線によって示される様に算出される。

【0019】すべての阻害剤に対して得られたデータを表2中にまとめて示し、すべてのI-50値が30~150 μ Mに及ぶことが明らかに示される。

※の一定の昼夜の検査が必要である。

【0021】2つの実験A及びBを行う。素性の知られていないコーン油(Dutch市場から)を使用する。実験Bで、由来及び加工条件が知られ、比較的高いコピキノノ含有量によって特徴づけられるコーン油(表3参照)を使用する。ラット中で3つの異なる油の動脈性血栓症傾向への作用を図2aに示す。ヤシ油、ひまわり種子油及びコーン油グループに対する実験Aで平均閉塞時間は、夫々91、123及び144時間である(図2a)。硬化ヤシ油とひまわり種子油の間の閉塞時間で実質的(35%)増加がある。これは前記例の観察と一致する。コーン油グループの平均閉塞時間は、まだ更に延長されることも明らかである(ヤシ油に対して58%、これはひまわり油を用いた場合のほぼ2倍である。)

実験Bに於て、ユビキノノのより高い濃度を有するコーン油を用いる場合、コーン油に有利になるこれらの相違ははるかに顕著である(図2b)。この結果は、例2中に示した様にビタミンK依存性酵素へのユビキノノに由来する作用と全く一致する。

(5)

特開平10-45614

7

8

 γ -トコフェロール

892

953

 γ -トコリエノール

31

31

【例4】

ヒトに於いて、Mazola（登録商標）コーン油摂取量の抗血栓症パラメーターへの作用

抗血栓症の血液パラメーターへの有益な作用は、ヒト予備試験でも得られる。14日間、被試験者4人に1日に*

*つき Mazola コーン油80mlを与える。次の血液パラメーターをその日及び14日目に測定する：プロトロンビン、凝固因子VII、トリグリセリド及びビタミンK。

【0022】初期値の著しい減少は、前記例で観察された抗血栓症作用と関係する。（表4）。

表4：

Mazolaコーン油80mlを毎日摂取した後、選択された血液パラメーターの変化

	その日	14日目
プロトロンビン* (%)	114	104
凝固因子VII* (%)	105	101
トリグリセリド (mmol/l)	0.88	0.68
ビタミン (ng/ml)	0.71	0.53

*データは、貯留された正常血漿標準レベルの百分率として表わされる。

【0023】本発明を十分に説明したが、多くの変更及び修正が上述の様に本発明の趣旨又は範囲から離れることなく実施できることは、当業者にとって明らかである。

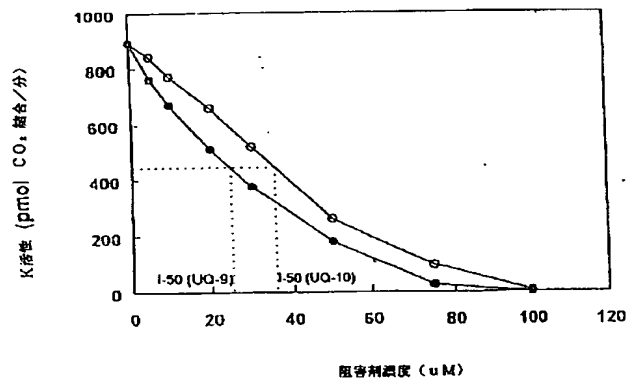
※態で行ない、阻害剤をトリトンX-114中に溶解後添加する。すべてのポイントは、二重実験の平均で表される。I-50値は、点線によって示される様に算出される。

【図面の簡単な説明】

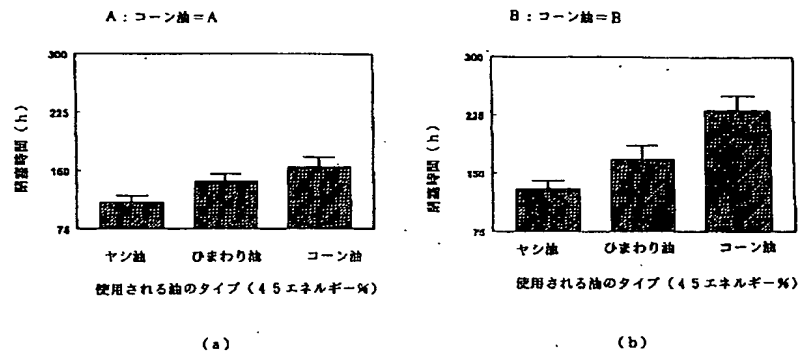
【図1】UQ-9（●）及びUQ-10（○）に関する阻害曲線を表す図である。インキュベーションを標準状※

20 【図2】ラットに於ける、3つの異なる油の動脈性血栓傾向への作用を示す図である。

【図1】



【図2】



フロントページの続き

(72)発明者 グンター・グナウック
ドイツ連邦共和国、74248 エルホッフエ
ン、ダムストラーセ、24

(72)発明者 ロルフ・シュトゥーテ
ドイツ連邦共和国、71686 レムゼック
(ネッカーレムス)、イン・デン・ガンザ
ツケルン、6

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.